INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 00/01701

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 B01J19/00 B01L3/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 B01J B01L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ, COMPENDEX, INSPEC, BIOSIS, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 93 22053 A (TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA) 11. November 1993 (1993-11-11) Zusammenfassung Seite 18, Absatz 1 Beispiel 5 Abbildungen 1-3,9	1-15
A	US 5 690 763 A (JAMES WILLIAM ASHMEAD ET AL.) 25. November 1997 (1997-11-25) Zusammenfassung Spalte 12, Zeile 66 -Spalte 13, Zeile 8 Abbildung 16	1-15
A	WO 96 03212 A (SYDNEY BRENNER) 8. Februar 1996 (1996-02-08) Zusammenfassung	

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
21. August 2000	28/08/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Stevnsborg, N

1

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Intern. ales Aktenzeichen
PCT/EP 00/01701

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9322053 A	11-11-1993	US 5304487 A	19-04-1994
		US 5296375 A	22-03-1994
		AT 155711 T	15-08-1997
		AT 167816 T	15-07-1998
		AT 140025 T	15-07-1996
		AT 140880 T	15-08-1996
		AT 174813 T	15-01-1999
		AU 677780 B	08-05-1997
		AU 4222393 A	29-11-1993
		AU 680195 B	24-07-1997
		AU 4222593 A	29-11-1993
		AU 677781 B	08-05-1997
		AU 4222693 A	29-11-1993
		AU 4222793 A	29-11-1993
		AU 677197 B	17-04-1997
		AU 4223593 A	29-11-1993
		CA 2134474 A	11-11-1993
		CA 2134475 A	11-11-1993
		CA 2134476 A	11-11-1993
		CA 2134477 A	11-11-1993
		CA 2134478 A	11-11-1993
		DE 69303483 D	08-08-1996
		DE 69303483 T	06-02-1997
		DE 69303898 D	05-09-1996
		DE 69303898 T	20-02-1997
		DE 69312483 D	04-09-1997
		DE 69312483 T	12-02-1998
		DE 69319427 D	06-08-1998
		DE 69319427 T	10-12-1998
		DE 69322774 D	04-02-1999
		DE 69322774 T	17-06-1999
		EP 0637996 A	15-02-1995
		EP 0637997 A	15-02-1995
		EP 0639223 A	22-02-1995
		EP 0637998 A	15-02-1995
		EP 0637999 A	15-02-1995
		ES 2106341 T	01-11-1997
		ES 2127276 T	16-04-1999
		GR 3025037 T	30-01-1998
		GR 3029509 T	28-05-1999
		HK 16897 A	13-02-1997
		JP 7506430 T	13-07-1995
		JP 7506431 T	13-07-1995
		JP 7506256 T	13-07-1995
		JP 7506257 T	13-07-1995
		JP 7506258 T	13-07-1995
		WO 9322055 A	11-11-1993
		WO 9322054 A	11-11-1993
		WO 9322421 A	11-11-1993
		WO 9322058 A	11-11-1993
US 5690763 A	25-11-1997	US 5534328 A	09-07-1996
		AU 6409794 A	11-10-1994
		BR 9405989 A	26-12-1995
		DE 69413012 D	08-10-1998
		DE 69413012 T	25-03-1999
		EP 0688242 A	27-12-1995
		JP 8508197 T	03-09-1996

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internales Aktenzeichen
PCT/EP 00/01701

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5690763 A		WO 9421372 A	29-09-1994
WO 9603212 A	08-02-1996	AU 2990595 A	22-02-1996

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter ›nal Application No
PCT/EP 00/01701

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 B01J19/00 B01L3/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 B01J B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ, COMPENDEX, INSPEC, BIOSIS, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 93 22053 A (TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA) 11 November 1993 (1993-11-11) abstract page 18, paragraph 1 example 5 figures 1-3,9	1-15
A	US 5 690 763 A (JAMES WILLIAM ASHMEAD ET AL.) 25 November 1997 (1997-11-25) abstract column 12, line 66 -column 13, line 8 figure 16	1-15
A	WO 96 03212 A (SYDNEY BRENNER) 8 February 1996 (1996-02-08) abstract	

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
21 August 2000	28/08/2000

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Stevnsborg, N

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP 00/01701

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9322053 A	11-11-1993	US 5304487 A	19-04-1994
		US 5296375 A	22-03-1994
		AT 155711 T	15-08-1997
		AT 167816 T	15-07-1998
		AT 140025 T	15-07-1996
		AT 140880 T	15-08-1996
		AT 174813 T	15-01-1999
		AU 677780 B	08-05-1997
		AU 4222393 A	29-11-1993
		AU 680195 B	24-07-1997
		AU 4222593 A	29-11-1993
		AU 677781 B	08-05-1997
		AU 4222693 A	29-11-1993
		AU 4222793 A	29-11-1993
		AU 677197 B	17-04-1997
		AU 4223593 A	29-11-1993
		CA 2134474 A	11-11-1993
		CA 2134475 A	11-11-1993
		CA 2134476 A	11-11-1993
		CA 2134477 A	11-11-1993
		CA 2134478 A	11-11-1993
		DE 69303483 D	08-08-1996
		DE 69303483 T	06-02-1997
		DE 69303898 D	05-09-1996
		DE 69303898 T	20-02-1997
		DE 69312483 D	04-09-1997
		DE 69312483 T	12-02-1998
		DE 69319427 D	06-08-1998
		DE 69319427 T	10-12-1998
		DE 69322774 D	04-02-1999
		DE 69322774 T	17-06-1999
		EP 0637996 A	15-02-1995
		EP 0637997 A	15-02-1995
		EP 0639223 A	22-02-1995
		EP 0637998 A	15-02-1995
		EP 0637999 A	15-02-1995
		ES 2106341 T	01-11-1997
		ES 2127276 T	16-04-1999
		GR 3025037 T	30-01-1998
		GR 3029509 T	28-05-1999
		HK 16897 A	13-02-1997
		JP 7506430 T	13-07-1995
		JP 7506431 T	13-07-1995
		JP 7506256 T	13-07-1995
		JP 7506257 T	13-07-1995
		JP 7506258 T	13-07-1995
		WO 9322055 A	11-11-1993
		WO 9322054 A	11-11-1993
		WO 9322421 A	11-11-1993
		WO 9322058 A	11-11-1993
US 5690763 A	25-11-1997	US 5534328 A	09-07-1996
		AU 6409794 A	11-10-1994
		BR 9405989 A	26-12-1995
		DE 69413012 D	08-10-1998
		DE 69413012 T	25-03-1999
		EP 0688242 A	27-12-1995
		JP 8508197 T	03-09-1996

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

Inter onal Application No
PCT/EP 00/01701

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5690763 A		WO 9421372 A	29-09-1994
WO 9603212 A	08-02-1996	AU 2990595 A	22-02-1996

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts	**WEITERES VORGEHEN**	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
P1287		
Internationales Aktenzeichen	Internationales Anmeldedatum *(Tag/Monat/Jahr)*	(Frühestes) Prioritätsdatum *(Tag/Monat/Jahr)*
PCT/EP 00/ 01701	25/02/2000	05/03/1999
Anmelder		
INSTITUT FÜR PHYSIKALISCHE HOCHTECHNOLOGIE E.V.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 2 Blätter.

[X] Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. **Grundlage des Berichts**

   a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

   [ ] Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

   b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

   [ ] in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.

   [ ] zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

   [ ] bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

   [ ] bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

   [ ] Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

   [ ] Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. [ ] **Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen** (siehe Feld I).

3. [ ] **Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung** (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

   [X] wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

   [ ] wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

   [X] wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

   [ ] wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 1

   [X] wie vom Anmelder vorgeschlagen

   [ ] keine der Abb.

   [ ] weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

   [ ] weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

PFEIFFER, Rolf-Gerd
Patentanwaltsbüro Pfeiffer &
Partner
Winzerlaer Strasse 10
D-07745 Jena
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year)
30 August 2001 (30.08.01)

Applicant's or agent's file reference
P1287

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/EP00/01701

International filing date (day/month/year)
25 February 2000 (25.02.00)

1. The following indications appeared on record concerning:

[X] the applicant [ ] the inventor [ ] the agent [ ] the common representative

Name and Address
INSTITUT FÜR PHYSIKALISCHE
HOCHTECHNOLOGIE E.V.
Winzerlaer Strasse 10
D-07745 Jena
Germany

State of Nationality: DE
State of Residence: DE
Telephone No.:
Facsimile No.:
Teleprinter No.:

RECEIVED
JAN 15 2002
TC 1700

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

[X] the person [ ] the name [ ] the address [ ] the nationality [ ] the residence

Name and Address
CLONDIAG CHIP TECHNOLOGIES GMBH
Löbstedter Strasse 105
07743 Jena
Germany

State of Nationality: DE
State of Residence: DE
Telephone No.:
Facsimile No.:
Teleprinter No.:

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

[X] the receiving Office
[ ] the International Searching Authority
[ ] the International Preliminary Examining Authority
[ ] the designated Offices concerned
[X] the elected Offices concerned
[ ] other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer
Céline Faust
Telephone No.: (41-22) 338.83.38

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 13 October 2000 (13.10.00)	
International application No. PCT/EP00/01701	**Applicant's or agent's file reference** P1287
International filing date (day/month/year) 25 February 2000 (25.02.00)	**Priority date** (day/month/year) 05 March 1999 (05.03.99)
Applicant KÖHLER, Johann, Michael	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

[X] in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

28 August 2000 (28.08.00)

[ ] in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election [X] was

[ ] was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO **34, chemin des Colombettes** **1211 Geneva 20, Switzerland**	Authorized officer Manu Berrod
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

Form PCT/IB/331 (July 1992)

EP0001701

Translation 09/914,874

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference P1287	**FOR FURTHER ACTION**	See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/EP00/01701	International filing date (*day/month/year*) 25 February 2000 (25.02.00)	Priority date (*day/month/year*) 05 March 1999 (05.03.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC B01J 19/00, B01L 3/00		
Applicant CLONDIAG CHIP TECHNOLOGIES GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

RECEIVED MAR 05 2002 IC 1700

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

RECEIVED MAR 04 2002 IC 1700

Date of submission of the demand 28 August 2000 (28.08.00)	Date of completion of this report 19 December 2000 (19.12.2000)
Name and mailing address of the IPEA/EP Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/IPEA/409 (cover sheet) (January 1994)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP00/01701

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

☒ the international application as originally filed.

☒ the description, pages 1-10, as originally filed,
pages _____, filed with the demand,
pages _____, filed with the letter of _____,
pages _____, filed with the letter of _____.

☒ the claims, Nos. 1-15, as originally filed,
Nos. _____, as amended under Article 19,
Nos. _____, filed with the demand,
Nos. _____, filed with the letter of _____,
Nos. _____, filed with the letter of _____.

☒ the drawings, sheets/fig 1/6-6/6, as originally filed,
sheets/fig _____, filed with the demand,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

☐ the description, pages _____
☐ the claims, Nos. _____
☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-15	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-15	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-15	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

1. The claimed subject matter is a microcolumn reactor for carrying out reactions on solid-phase reactants and/or with biological cells.

The claimed subject matter is novel over the prior art because none of the documents cited in the search report describes a microcolumn reactor with a longitudinal channel contained between four openings.

The closest prior art is WO-A-93/22053 (document D1), which discloses a microdevice consisting of two substrate chips. One of the substrate chips has an inlaid longitudinal channel contained between two openings, which act as an inlet and outlet for a fluid phase. Microbeads are introduced into the channel. The openings can be closed by means of valves.

D1 does not disclose two additional openings disposed outside the channel portion (a) formed by the first two openings to allow the introduction and/or displacement of the microbeads and/or cells in portion (a) by the application of fluid pressure. The microcolumn reactors according to Claims 1-15 are therefore novel.

2. The design involving four openings, such that one of the through-openings and one of the other openings can be temporarily closed by suitable means, makes it possible to transport optionally either only the stationary phase (microbead/cell suspension) or the mobile phase. Thus, by combining a plurality of the claimed microreactors it is possible to establish solid phase separation or synthesis procedures. Since the prior art makes no reference either to the transportation of the stationary phase or to device features adapted for this purpose, the microcolumn reactor according to Claims 1-15 is inventive.

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

1. Claims 11, 12 and 14 include features introduced by the expressions "such as" and "for example". This kind of formulation is not clear with regard to the intended scope of protection. Such features should be either deleted or introduced by a formulation such as "selected from".

   In the case of Claims 11 and 12, the second option seems to be the only viable one, since the term "assemblies" is so vague that a claim containing only this term would also be unclear with regard to the scope of protection.

2. In Claim 14, reference signs 411 and 412 should be identified as such by the use of parentheses.

PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 7 : B01J 19/00, B01L 3/00 — A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: **WO 00/53308**

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 14. September 2000 (14.09.00)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/01701

(22) Internationales Anmeldedatum: 25. Februar 2000 (25.02.00)

(30) Prioritätsdaten:
199 10 392.5 5. März 1999 (05.03.99) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten ausser US)*: INSTITUT FÜR PHYSIKALISCHE HOCHTECHNOLOGIE E.V. [DE/DE]; Winzerlaer Strasse 10, D–07745 Jena (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)*: KÖHLER, Johann, Michael [DE/DE]; Untergasse 8, D–07751 Golmsdorf (DE).

(74) Anwalt: PFEIFFER, Rolf–Gerd; Patentanwaltsbüro Pfeiffer & Partner, Winzerlaer Strasse 10, D–07745 Jena (DE).

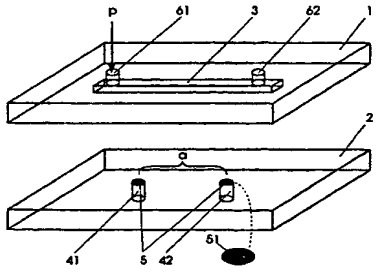
(81) Bestimmungsstaaten: CA, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.
Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(54) **Title:** MICROCOLUMN REACTOR

(54) **Bezeichnung:** MIKROSÄULENREAKTOR

(57) **Abstract**



The invention relates to a microcolumn reactor for carrying out reactions on solid phases and/or with biological cells. The aim of the invention is to provide a microcolumn reactor for processes of synthesis and separation on small sample volumina that replaces an alternating sequence of binding and elution processes on a phase that is stationary bound during a test series and makes it possible to exchange the stationary phase, for example once it has been loaded. To this end, the microcolumn reactor consists of at least one first and one second substrate wafer (1; 2) that are linked with one another across their surfaces. At least one of the substrate wafers (1; 2) is provided with an elongate channel (3) which comprises in a defined section (a) of its length two passage openings (41, 42) that are implemented in the opposite substrate wafer. Said openings (41, 42) are separated from the channel (3) by a partially permeable sieve–type membrane (5). The areas of acceptance (51) of said membrane have a diameter that is chosen in such a manner as to specifically prevent microbeads and/or cells introduced into the channel from entering the passage openings (41, 42). The channel (3) is provided with at least two further openings (61, 62) outside the section (a) that is comprised by the passage openings (41, 42). Said further openings permit the microbeads and/or cells that are provided above the section (a) to be introduced and/or displaced by applying a fluid pressure (p). Means are provided that temporarily close at least one of the passage openings (41, 42) and one of the openings (61, 62).

(57) **Zusammenfassung**

Die Erfindung Betrifft einen Mikrosäulenreaktor zur Durchführung von Reaktionen an festen Phasen und/oder mit biologischen Zellen. Die Aufgabe der Erfindung, für Synthese– und Trennprozesse an kleinen Probenvolumina, einen Mikrosäulenreaktor zu schaffen, mit Hilfe dessen, anstelle einer alternierenden Folge von Binde– und Elutionsprozessen an einer während einer Betriebsserie stationär eingebundenen Phase, ein Austausch der stationären Phase, z.B. nach Beladung, erfolgen kann, wird dadurch gelöst, dass der Mikrosäulenreaktor aus mindestens einem ersten und einem zweiten Substratplättchen (1; 2), die miteinander flächig verbunden sind, besteht, wobei in wenigstens eins der Substratplättchen (1; 2) wenigstens ein längserstreckter Kanal (3) eingebracht ist, der in einem vorgebbaren Abschnitt (a) seiner Länge von zwei Durchtrittsöffnungen (41, 42), die in das gegenüberliegende Substratplättchen eingebracht sind, erfasst ist, wobei die Durchtrittsöffnungen (41, 42) vom Kanal (3) durch eine Teildurchlässige siebartige Membran (5) getrennt sind, deren Durchlassbereiche (51) so bemessen sind, dass sie in den Kanal (3) eingebrachte Mikroperlen und/oder Zellen vorgebbar am Eintritt in die Durchtrittsöffnungen (41, 42) hindern, und dass der Kanal (3), ausserhalb des durch die Durchtrittsöffnungen (41, 42) erfassten Abschnitts (a), mit wenigstens zwei weiteren Öffnungen (61, 62) versehen ist, die ein Einbringen und/oder Verschieben der über dem Abschnitt (a) vorgesehenen Mikroperlen und/oder Zellen durch Anlegen eines fluidischen Drucks (p) ermöglichen und Mittel zum zeitweisen Verschluss wenigstens einer der Durchtrittsöffnungen (41, 42) und einer der Öffnungen (61, 62) vorgesehen sind.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	**ES**	Spanien	**LS**	Lesotho	**SI**	Slowenien
AM	Armenien	**FI**	Finnland	**LT**	Litauen	**SK**	Slowakei
AT	Österreich	**FR**	Frankreich	**LU**	Luxemburg	**SN**	Senegal
AU	Australien	**GA**	Gabun	**LV**	Lettland	**SZ**	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	**GB**	Vereinigtes Königreich	**MC**	Monaco	**TD**	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	**GE**	Georgien	**MD**	Republik Moldau	**TG**	Togo
BB	Barbados	**GH**	Ghana	**MG**	Madagaskar	**TJ**	Tadschikistan
BE	Belgien	**GN**	Guinea	**MK**	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	**TM**	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	**GR**	Griechenland			**TR**	Türkei
BG	Bulgarien	**HU**	Ungarn	**ML**	Mali	**TT**	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	**IE**	Irland	**MN**	Mongolei	**UA**	Ukraine
BR	Brasilien	**IL**	Israel	**MR**	Mauretanien	**UG**	Uganda
BY	Belarus	**IS**	Island	**MW**	Malawi	**US**	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	**IT**	Italien	**MX**	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	**JP**	Japan	**NE**	Niger	**UZ**	Usbekistan
CG	Kongo	**KE**	Kenia	**NL**	Niederlande	**VN**	Vietnam
CH	Schweiz	**KG**	Kirgisistan	**NO**	Norwegen	**YU**	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	**KP**	Demokratische Volksrepublik Korea	**NZ**	Neuseeland	**ZW**	Zimbabwe
CM	Kamerun			**PL**	Polen		
CN	China	**KR**	Republik Korea	**PT**	Portugal		
CU	Kuba	**KZ**	Kasachstan	**RO**	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	**LC**	St. Lucia	**RU**	Russische Föderation		
DE	Deutschland	**LI**	Liechtenstein	**SD**	Sudan		
DK	Dänemark	**LK**	Sri Lanka	**SE**	Schweden		
EE	Estland	**LR**	Liberia	**SG**	Singapur		

Mikrosäulenreaktor

Beschreibung

Die Erfindung betrifft einen Mikrosäulenreaktor zur Durchführung von Reaktionen an festen Phasen und/oder mit biologischen Zellen. Dabei kann der vorgeschlagene Mikrosäulenreaktor beispielsweise bei nachfolgenden Synthese- und Trennprozessen:

- Grignardreaktion und Herstellung anderer metallorganischer Verbindungen,
- Trocknen von Lösungsmitteln mit Hilfe metallischer oder oxidischer Trocknungsmittel,
- Ionenaustauschprozessen und
- der Extraktion von festen Phasen

vorteilhaft zur Anwendung gelangen. Insbesondere findet die Erfindung im Bereich von komplexen kombinatorisch-chemischen oder Screening-Operationen Anwendung oder um biologische Screening-Prozesse automatisiert durchführen zu können.

Probenpartikel ("Perlen", "Beads") werden seit Jahrzehnten für die Separation und Synthese im labortechnischen Bereich eingesetzt. Meistens handelt es sich dabei um Glas- oder Polymerkügelchen, welche Durchmesser von 0.01 mm bis 1 mm, typischerweise um die 0.1 mm, besitzen und trocken oder vorgequollen als loses Schüttgut in einen Behälter gefüllt und dann mit Flüssigkeit umspült werden, wobei zwischen der Festphasenoberfläche der Partikel und der sie umgebenden Flüssigkeit ein Adsorptions- oder Reaktionsprozeß abläuft. Verfahren der Säulenchromatographie (z.B. Gelfiltration), der Säulenextraktion, der Immundiagnostik, der Biomolekülreinigung (z.B. DNA-Reinigung) sowie der homogenen und heterogenen Synthese (von Oligonukleotiden, Peptiden oder kombinatorischen Substanzbibliotheken) nutzen diese Technik aus. Bei allen diesen Verfahren und Vorrichtungen ist eine feste Phase, an die Reaktionspartner angebunden sind, oder die als Reaktionsoberfläche dient, im Reaktionsgefäß während der Reaktion fest eingebunden. Die Prozesse werden durch eine Abfolge von einzelnen Binde- und Abspaltungsvorgängen geführt. Die Entfernung der stationär

angeordneten festen Phase aus dem Reaktor ist während einer Betriebsserie derartiger Vorrichtungen nicht vorgesehen, nicht möglich oder sie ist zeitraubend und wenig praktikabel.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, für Synthese- und Trennprozesse an kleinen Probenvolumina, einen Mikrosäulenreaktor zu schaffen, mit Hilfe dessen, anstelle einer alternierenden Folge von Binde- und Elutionsprozessen an einer während einer Betriebsserie stationär eingebundenen Phase, ein Austausch der stationären Phase, z.B. nach Beladung, erfolgen kann, um etwa komplexe Stoffgemische oder auch Partikel und Zellen effizienter zu trennen und kombinatorische Synthesen leichter und schneller durchführen zu können.

Die Aufgabe wird durch die kennzeichnenden Merkmale des ersten Patentanspruchs gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind durch die nachgeordneten Ansprüche erfaßt.
Das Wesen der Erfindung besteht darin, daß ein Mikrosäulenreaktor zur Durchführung von Reaktionen an festen Phasen und/oder mit biologischen Zellen geschaffen ist, der aus mindestens einem ersten und einem zweiten Substratplättchen besteht, die miteinander flächig verbunden sind, wobei in wenigstens eins der Substratplättchen wenigstens ein längserstreckter Kanal eingebracht ist, der in einem vorgebbaren Abschnitt seiner Länge von zwei Durchtrittsöffnungen, die in das gegenüberliegende Substratplättchen eingebracht sind, erfaßt ist, wobei die Durchtrittsöffnungen vom Kanal durch eine teildurchlässige siebartige Membran getrennt sind, deren Durchlaßbereiche so bemessen sind, daß sie in den Kanal eingebrachte Mikroperlen und/oder Zellen vorgebbar am Eintritt in die Durchtrittsöffnungen hindern, und daß der Kanal, außerhalb des durch die Durchtrittsöffnungen erfaßten Abschnitts, mit wenigstens zwei weiteren Öffnungen versehen ist, die ein Einbringen und/oder Verschieben der über dem Abschnitt vorgesehenen Mikroperlen und/oder Zellen durch Anlegen eines fluidischen Drucks ermöglichen und wenigstens eine der Durchtrittsöffnungen und eine der Öffnungen verschließbar sind.
Die Erfindung soll nachstehend anhand schematischer Ausführungsbeispiele näher erläutert werden. Es zeigen:

Fig. 1 eine erste Ausführungsform eines Mikrosäulenreaktors mit seinen funktionsbestimmenden Baugruppen in einer Explosionsdarstellung,

Fig. 2 eine zweite Ausführungsform eines Mikrosäulenreaktors mit seinen funktionsbestimmenden Baugruppen in einer Explosionsdarstellung,

Fig. 2a eine andere Art der Verbindung von Durchtrittsöffnungen mit zu- bzw. abführenden Kanälen,

Fig. 3 einen Längsteilschnitt durch eine Ausführungsform nach Fig. 1 oder Fig. 2,

Fig. 4 und 5 mögliche Anordnungsformen mehrerer Mikrosäulenreaktoren,

Fig. 6 eine beispielhafte Verschaltung mehrere Mikrosäulenreaktoren zur Synthese einer speziellen Substanzbibliothek in einem Blockschema und

Fig. 7a-d eine weitere Ausführungsform eines Mikrosäulenreaktors in verschiedenen Fertigungsschritten.

In Figur 1 ist 1 eine erste Ausführungsform eines Mikrosäulenreaktors mit seinen funktionsbestimmenden Baugruppen in einer Explosionsdarstellung dargestellt. Nach Fig. 1 besteht der Mikrosäulenreaktor aus zwei Substratplättchen 1, 2, wobei im Beispiel in das erste Substratplättchen 1, hier bestehend aus Glas, mit den Abmessungen 15 mm · 8 mm · 1 mm, ein längserstreckter Kanal 3 eingebracht ist, dem eine Breite von 1 mm, eine Tiefe von 100 µm und eine Länge von 10 mm gegeben ist. Dieser Kanal ist durch zwei Öffnungen 61, 62, hier Bohrungen, mit zwei nicht dargestellten Fluidanschlüssen verbunden. Für das zweite Substratplättchen 2 ist im Beispiel ein Siliziumwafer mit den Abmessungen 15 mm · 8 mm · 0.5 mm gewählt, in welches zwei Durchtrittsöffnungen 41, 42 derart eingearbeitet sind, daß sie bei paßgenauer Positionierung zum Glasplättchen 1 einen Abschnitt a erfassen, der im Beispiel über den Endbereichen des Kanals 3 zu liegen kommt. Die Durchtrittsöffnungen 41, 42 sind mit einer teildurchlässigen siebartigen Membran, hier in Form einer Siliziumoxinitridporenmembran überspannt. Die Dicke der Membran beträgt im Beispiel 2 µm und die Durchlaßbereiche 51 der Membran

weisen Poren mit Durchmessern von 5 µm auf. Je nach Einsatzfall und der zum Einsatz gelangenden Mikroperlen 6 können die konkreten Größen der Durchlaßbereiche 51 variabel vorgebbar festgelegt werden. Die Porenmembran dient dem Zurückhalten der in den Kanal 3 einzubringenden Partikel oder Zellen 7. Ebenso kann im Rahmen der Erfindung, je nach Einsatz des Mikrosäulenreaktors, die Membran (5) durch eine nanoporöse Dünnschichtmembran gebildet sein, deren Porengrößen in einem Bereich zwischen 5 ... 500 nm festgelegt sind.

Soll den Durchtrittsöffnungen 41, 42 eine Struktur gegeben werden, wie sie in Fig. 3 angedeutet ist, bei der die Durchtrittsöffnungen durch zwei an ihren schmalen Basisflächen aufeinanderstehende pyramidenstumpfförmige Kanalbereiche parallel zur Flächennormalen n des zweiten Substratplättchens 2 gebildet ist, setzt man für das Substratplättchen 2 einen Si(100)-Wafer ein, der beidseitig mit einer geeigneten Ätzmaske (z.B. Si-Oxinitrid) versehen ist. Diese Maske bildet an der Vorderseite ein Array von Mikrofenstern, deren Abmessungen die Porenweite festlegen. Typischerweise wird eine Porenweite von 5 µm realisiert. Diese ist bequem mit herkömmlichen Mitteln der Fotolithografie und Ätztechnik herstellbar. Mittig zu dieser Porenstruktur werden von der Rückseite des Si-Wafers zwei Fenster so strukturiert, daß beim Ätzen von beiden Seiten zwei pyramidenstrunpfförmige Kanäle entstehen, die an ihrer dem ersten Substratplättchen 1 zugewandten Oberfläche durch Siebböden verschlossen sind.

Sollen mit den Durchtrittsöffnungen 41, 42 gleichzeitig Kanalstrukturen zur Fluidkontaktierung der mobilen Phase innerhalb der Substratebene des Substratplättchens 2 erzeugt werden, so daß die Anschlüsse 41, 42 bspw. seitlich an den Stirnseiten aus dem Mikrosäulenreaktor herausgeführt sind, ist für das Substratplättchen im Beispiel ein Si-Wafer (in 100-Orientierung für geneigte Kanalwände oder in 110-Orientierung für senkrechte Kanalwände) eingesetzt, der mit einer Siebporenmebranmaskenstruktur 5 versehen ist, die im Bereich des weiter verlaufenden Kanals 411, 412 durch ein der Kanalweite entsprechendes Fenster, das bis zum Chiprand reicht, begleitet wird (vgl. Fig. 7a-d). Die Rückseite des Si-Wafers bleibt völlig von einer ätzresistenten Schutzschicht (z.B. Si_3N_4) bedeckt. Zunächst wird der Si-Wafer mit einem isotrop wirkenden Ätzbad (z.B. auf HF-Basis) so

geätzt, daß die Stege zwischen den Einzelporen der Siebstrukturmaske vollständig unterätzt werden. Anschließend wird mit einem anisotropen Ätzbad (z.B. auf KOH-Basis) weitergeätzt, um die geneigten bzw. senkrechten Kanalkanten zu erhalten. Die Figuren 7a-d zeigen das Ergebnis vorstehend beschriebenen Vorgehens anhand einer beispielhaften Struktur. Dabei ist aus Fig. 7a ein in das erste Substratplättchen 1 eingebrachter Kanal 3 ersichtlich. Fig. 7b zeigt die in das zweite Substratplättchen eingebrachte Struktur mit den zum Substratrand verlängert ausgebildeten Kanalabschnitten 411 und 421, wobei Fig. 7c die Verhältnisse nach Fig. 7b im seitlichen Schnitt darstellt und Fig. 7d verdeutlicht in transparenter Darstellung in Draufsicht die Orientierung der einzelnen genannten Teile zueinander, wenn das erste und zweite Substratplättchen miteinander verbunden sind.
Die zur Fig. 1 beschriebenen ersten und zweiten Substratplättchen (1, 2) werden nach Herstellung der beschriebenen Strukturen miteinander durch anodisches Bonden verbunden.

Die zuvor beschriebenen speziellen Ausführungsformen sind besonders vorteilhaft mit herkömmlichen Bearbeitungsschritten eingeführter Mikrostrukturierungstechniken herstellbar, beschränken die Erfindung jedoch nicht darauf. Ebenso können für das erste und/oder zweite Substratplättchen 1, 2 ein Glasplättchen und/oder ein Plättchen aus einem Kunststoff gewählt sein, wobei der Kanal 3 in das erste Substratplättchen 1 eingebracht ist und die dem ersten Substratplättchen 1 zugewandte Oberfläche des zweiten Substratplättchens 2 durchgängig mit einer Membran überzogen ist, in die zumindest im Bereich der Durchtrittsöffnungen 41, 42 eine mikrostrukturierte Perforation zur Bildung der Durchlaßbereiche 51 eingebracht ist. Insbesondere kann hier das zweite Substratplättchen 2 mit einer das Substratplättchen überspannenden perforierten Polymerfolie 50 versehen sein, wie es in Fig. 2 schematisch angedeutet ist. Auch eine solche Ausführung läßt andere Kanalführungen zu, wie es in Fig. 2a anhand einer beispielhaften Kanalführung 411, 421 im Substratplättchen 2 angedeutet ist.

In Figur 3 ist ein Längsteilschnitt durch eine der bislang beschriebenen Ausführungsformen nach Fig. 1 oder Fig. 2 dargestellt. Dabei ist

ersichtlich, wie der Kanal 3 im zusammengefügten Zustand der Substratplättchen 1, 2 mit der festen Phase, hier in Form von Mikroperlen 7 verfüllt ist. Bei vorliegendem Vorschlag ist es nicht erforderlich, extreme Packungsdichten der stationären Phase 7 zu erreichen. Wichtig ist nur, daß die Abstände zwischen den Partikeln der stationären Phase 7 so bemessen sind, daß während der Verweilzeit eines Moleküls im Reaktorraum, worunter hier der durch die Durchtrittsöffnungen 41, 42 erfaßte Abschnitt des Kanals 3 zu verstehen ist, ein genügend häufiger Kontakt mit der stationären Phase stattfindet. Das sollte bereits bei Partikelgrößen im mittleren bis unteren Mikrometerbereich bei Verweilzeiten von weniger als einer Sekunde, z.T. im unteren Millisekundenbereich, gegeben sein. Die Festlegung der Partikelgrößen und/oder der zurückzuhaltenden oder durchzulassenden Zellen erfolgt in Abhängigkeit von der vorgegebenen konkreten Aufgabenstellung und der daraufhin anzupassenden Porengröße der teildurchlässigen siebartigen Membran 5, die so festzulegen ist, daß ein Verstopfen der Poren ausgeschlossen ist. In Fig. 3 ist weiterhin schematisch angedeutet, daß die einzelnen Flußwege im dargestellten einzelne Mikrosäulenreaktor mit Hilfe von mindestens zwei Ventilen 91, 92 wahlweise verschließbar sind. Optional können auch die Öffnungen 42, 62 mit jeweils einem weiteren, in Fig. 3 nicht dargestellten Ventil verschließbar sein. Dadurch ist eine wahlfreie Adressierung der beiden Zu- 61, 41 und der beiden Abläufe 42, 62 des Mikrosäulenreaktors ermöglicht. Damit liegt ein Mikrosäulenreaktor vor, bei dem nicht nur die mobile Phase, z.B. eine homogene Flüssigkeit, deren Flußweg in Fig. 3 durch Pfeile i und o angedeutet ist, sondern auch die stationäre Phase, hier die Mikroperlen 7, bewegt werden kann. Durch Verschließen jeweils eines Zu- oder Abflusses läßt sich nun wahlweise nur die mobile Phase oder aber auch die stationäre Phase 7 als Suspension transportieren. Dadurch wird ein rascher Austausch von Trennmaterial möglich und es lassen sich durch Kombination mehrerer der beschriebenen Mikroreaktoren sogar Festphasentrenn- und Syntheselogiken aufbauen. Es können somit, aufgrund der mikrofluidischen Trennung von mobiler und stationärer Phase, auch spezifische Binde- und Abspaltprozesse durchgeführt werden, die weiter nachstehend beschrieben werden sollen.

In den Figuren 4 und 5 sind mögliche Anordnungsformen mehrerer Mikrosäulenreaktoren schematisch angedeutet. Je nach Ausführung können dabei die Mikrosäulenreaktoren diskret, analog zu den Figuren 1 und 2, ausgeführt und miteinander in Verbindung gebracht sein, oder wie in den Figuren 4 und 5 dargestellt, können mehrere solcher Mikrosäulenreaktoren linear (Fig. 4) jeweils eines ersten und zweiten Substratplättchens sein, oder es können auch mehrere solcher Mikrosäulenreaktoren in unterschiedlichen Ebenen (Fig. 5) miteinander in Verbindung gebracht sein, wobei jeweils eine Ebene analog zu Fig. 4 ausgeführt sein kann. Je nach vorzugebenden Reaktionsablauf können die eigentlichen Reaktorabschnitte, bestimmt durch die Länge des Abschnitts a, durch die der den Kanal 3 durch die Durchtrittsöffnungen 41, 42 erfaßt ist, zueinander in einem äquidistanten Abstand b oder in einem variabel festlegbaren Abstand c angeordnet sein. Ebenso ist es möglich, die Abstände der Durchtrittsöffnungen 41, 42 von Reaktor zu Reaktor in ihrer Länge unterschiedlich festzulegen, vgl. Fig. 4, Abstände a und a1. Vorgenannte Möglichkeiten sind einzig durch die mit den Mikrosäulenreaktoren durchzuführende Reaktion bestimmt. Weitere, insbesondere ebenfalls in Mikrosystemtechnik ausgeführte Baugruppen, wie bspw. optische Detektoren, Analyseeinheiten, Kalorimeter, elektrochemische Detektoren etc., können in die Zusammenschaltung mehrerer Mikrosäulenreaktoren eingebunden sein, wie es in Fig. 5 durch eine derartige Baugruppe 8 lediglich schematisch angedeutet ist.

Der vorgeschlagene Mikrosäulenreaktor und sein mehrfacher Einsatz durch Zusammenschaltung mehrere einzelner Mikrosäulenreaktoren eignet sich insbesondere für die Durchführung von automatisierten Prozessen der Wirkstoffentwicklung mittels beadgebundener Festphasensynthese. Mehrere solche Mikrosäulenreaktoren können auch untereinander und mittels vorzusehender Ventile zu Fluidlogiken zusammengeschaltet werden, um z.B. komplexere kombinatorisch-chemische oder Screening-Operationen mikroautomatisiert durchführen zu können. Speziell für biologische Screening-Prozesse können anstelle der in Fig. 3 angedeuteten Mikroperlen auch Zellen in das System eingebracht werden. Der Reaktor eignet sich auch für die mikromodulare Kombination mit

Mikrodurchflußküvetten für mikrophotometrische, mikrofluorimetrische oder mikrochemoluminometrische Messungen.
Der vorgeschlagene Mikrosäulenreaktor läßt ein Nachschieben neuer Reaktionspartner (Mikroperlen und/oder Zellen) durch den Kanal 3 durch Anlegen eines fluidischen Drucks p zu, so daß eine weitere Variabilität der Gesamtvorrichtung bei gleichzeitig geringst möglichem Totvolumen gegeben ist.

Die dargestellten vorteilhaften Einsatzmöglichkeiten sollen anhand nachfolgender Ausführungsbeispiele detaillierter angedeutet werden.

Zunächst soll die Synthese einer Bibliothek der 4 Tripetide Gly-Val-Leu, Gly-Gly-Leu, Gly-Val-Ala und Gly-Gly-Ala in einem Mikroreaktorfluidsystem beschrieben werden.
Zum Einsatz kommt im Beispiel ein System mit 16 Mikroreaktorsäulen, die fluidisch, wie in Fig. 6 angedeutet, verschaltet sind. Zunächst werden die Mikroreaktoren A1 und B1, sowie C1 und D1 mit Mikroperlen in Form von Polystyrol-Synthesebeads beladen, an deren Oberfläche die Aminosäure Glycin über eine Esterbindung zu einer Benzylgruppe als Spacer angekoppelt ist. Die vier Mikrosäulenreaktoren werden nach Sperrung der Fluidkanäle für die stationären Phasen (beads) durch die mit Siebböden ausgestatteten Zu- und Abführungen der Kanäle für die mobilen Phasen paarweise (A/B) mit einer 1:1 gemischten warmen Lösung von Dicyclohexylcarbodiimid und Valin, bzw. (C/D) mit einer 1:1 gemischten warmen Lösung von Dicyclohexylcarbodiimid und Glycin bespült. Die Aminogruppen der zugeführten Aminosäuren sind dabei durch tertiär-Butyloxycarbonylgruppen geschützt. Nach dem ersten Spülschritt werden alle stationäre Phasen in die Modulreihe 2 durch jeweiliges Anlegen eines fluidischen Drucks weiterbefördert und dort durch die in Reihe geschalteten Kanäle für die mobilen Phasen gespült und durch Durchleiten von leicht wasserhaltiger Trifluoressigsäure entschützt. Anschließend werden die fluidischen Phasen in die Modulgruppe 3 befördert, wobei die stationäre Phase von B2 nach C3 und die von C2 nach B3 geführt wird. In der Modulreihe 3 vollzieht sich analog zur Modulreihe 1 die Umsetzung mit geschützten Aminosäuren, wobei jetzt anstelle von Valin Leucin und anstelle von Glycin Alanin

zugeführt werden. Nach dieser Operation und einem ersten Spülschritt werden die stationären Phasen in die Modulreihe 4 befördert und dort die Schutzgruppen abgespalten. Die vier Gruppen von Synthesebeads werden anschließend in separaten Ausgängen entnommen und zur Freisetzung der Tripeptide die Benzylesterbindungen gespalten.

In einem weiteren Anwendungsbeispiel soll die Herstellung von Ethylgrignard aus Ethylchlorid für Mikrofluidsynthesen beschrieben werden.
Als stationäre Phase wird zunächst eine Suspension von Magnesiumpulver in trocknem Ethylether in einen Mikrosäulenreaktor eingetragen. Nach Sperrung des Kanals für diese stationäre Phase wird über die Zu- und Abführung für die mobile Phase der Ether durch eine warme Lösung von Ethylchlorid in Ether verdrängt. Am Ablauf der mobilen Phase wird der Ethylgrignard als Etherlösung entnommen.

Der Mikrosäulenreaktor kann wie eine Chip-Kartusche auch für die Bereitstellung von nahezu beliebigen Grignards und anderen metallorganischen Verbindungen für Mikrofluidsynthesen im Chipformat eingesetzt werden. Das System ist besonders vorteilhaft, da die Lösungen leicht wasser- und sauerstofffrei gehalten werden können (z.B. im Gegensatz zu Mikrotiterplatten und Nanotiterplatten) und aufgrund des geringen Reaktionsvolumens kann die freiwerdende Reaktionswärme leicht abgeführt werden, und es kann dadurch nicht zu einem gefährlichen Überhitzen des Reaktors kommen.

Entsprechend der eingangs geschilderten Anwendungsmöglichkeiten, läßt sich der vorgeschlagene Mikrosäulenreaktor in vielfältiger Weise vorteilhaft einsetzen.

Alle in der Beschreibung, den nachfolgenden Ansprüchen und der Zeichnung dargestellten Merkmale können sowohl einzeln als auch in beliebiger Kombination miteinander erfindungswesentlich sein.

Bezugszeichenliste

1	-	erstes Substratplättchen
2	-	zweites Substratplättchen
3	-	Kanal
41, 42	-	Durchtrittsöffnungen
411, 421	-	Kanalabschnitte im zweiten Substratplättchen
5	-	teildurchlässige siebartige Membran
50	-	Polymerfolie
51	-	Durchlaßbereiche (Poren)
61, 62	-	Öffnungen im ersten Substratplättchen
7	-	Mikroperlen und/oder Zellen
8	-	Baugruppen, wie wie bspw. optische Detektoren, Analyseeinheiten, Kalorimeter, elektrochemische Detektoren etc
91, 92	-	Ventile
a, a1	-	durch die Durchtrittsöffnungen erfaßter Abschnitt
b	-	äquidistante Abstände zwischen zusammengehörigen Durchtrittsöffnungen
c	-	unterschiedliche Abstände zwischen zusammengehörigen Durchtrittsöffnungen
i	-	Zufluß für die mobile Phase
o	-	Abfluß für die mobile Phase
n	-	Flächennormale
p	-	fluidischer Druck
A1 bis D4	-	Mikrosäulenreaktoren

Patentansprüche

1. Mikrosäulenreaktor zur Durchführung von Reaktionen an festen Phasen und/oder mit biologischen Zellen, bestehend aus mindestens einem ersten und einem zweiten Substratplättchen (1; 2), die miteinander flächig verbunden sind, wobei in wenigstens eins der Substratplättchen (1; 2) wenigstens ein längserstreckter Kanal (3) eingebracht ist, der in einem vorgebbaren Abschnitt (a) seiner Länge von zwei durch das Substratplättchen geführte Öffnungen (41, 42), erfaßt ist, wobei Filterelemente vorgesehen sind, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchtrittsöffnungen (41, 42) vom Kanal (3) durch eine teildurchlässige siebartige Membran (5; 50) getrennt sind, deren Durchlaßbereiche (51) so bemessen sind, daß sie in den Kanal (3) eingebrachte Mikroperlen und/oder Zellen (7) vorgebbar am Eintritt in die Durchtrittsöffnungen (41, 42) hindern, und daß der Kanal (3), außerhalb des durch die Durchtrittsöffnungen (41, 42) erfaßten Abschnitts (a), mit wenigstens zwei weiteren Öffnungen (61, 62) versehen ist, die ein Einbringen und/oder Verschieben der über dem Abschnitt (a) vorgesehenen Mikroperlen und/oder Zellen (7) durch Anlegen eines fluidischen Drucks (p) ermöglichen und Mittel (91, 92) zum zeitweisen Verschluß wenigstens einer der Durchtrittsöffnungen (41, 42) und einer der Öffnungen (61, 62) vorgesehen sind.

2. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß für das erste Substratplättchen (1) ein Glas und für das zweite Substratplättchen (2) eine Siliziumwafer gewählt ist, wobei der Kanal (3) in das Glasplättchen (1) eingebracht ist und die dem Glasplättchen zugewandte Oberfläche des Siliziumwafers (2) durchgängig mit einer Beschichtung versehen ist, in die zumindest im Bereich der Durchtrittsöffnungen (41, 42) eine mikrostrukturierte Perforation zur Bildung der Durchlaßbereiche (51) eingebracht ist.

3. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß für das erste und/oder zweite Substratplättchen (1, 2) ein Glasplättchen und/oder ein Plättchen aus einem Kunststoff gewählt ist, wobei der Kanal (3) in das erste Substratplättchen (1) eingebracht ist und die dem ersten Substratplättchen (1) zugewandte Oberfläche des zweiten Substratplättchens (2) durchgängig mit einer Membran überzogen ist, in die zumindest im Bereich der Durchtrittsöffnungen (41, 42) eine mikrostrukturierte Perforation zur Bildung der Durchlaßbereiche (51) eingebracht ist.

4. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Membran durch eine das zweite Substratplättchen (2) überspannende perforierte Polymerfolie (50) gebildet ist.

5. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß das erste und zweite Substratplättchen (1, 2) miteinander durch anodisches Bonden verbunden sind.

6. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß das erste und zweite Substratplättchen (1, 2) miteinander außerhalb des Bereichs des Kanals (3) durch Verklebung verbunden sind.

7. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß das erste und zweite Substratplättchen (1, 2) miteinander durch äußere Spannmittel verbunden sind.

8. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1, 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchlaßöffnungen (41, 42) jeweils mit einem in der Ebene des zweiten Substratplättchens (2) liegenden und zu einem Substratrand geführten Kanal (411, 421) verbunden sind.

9. Mikrosäulenreaktor nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß ein Kanal (3) von mehreren Durchtrittsöffnungen (41, 42) erfaßt ist, wobei jeweils zusammengehöhrige, einen Zu- (i) und Abfluß (o) bildende Durchtrittsöffnungen und jeweils einen Abschnitt (a) des Kanals (3) erfassende Durchtrittsöffnungen zueinander in einem äquidistanten (b) oder in variablen unterschiedlichen Abständen (c) angeordnet sind.

10. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß beim Vorsehen mehrerer zusammengehöriger Durchtrittsöffnungen (41, 42) auf einem gemeinsamen Substrat, oder bei fluidischer Verschaltung mehrerer diskreter Mikrosäulenreaktoren, der jeweilige Abstand (a; a1) der zusammengehörigen, einen Zu- und Abfluß bildenden Durchtrittsöffnungen, dem jeweiligen Reaktionsprozeß angepaßt, unterschiedlich lang ausgeführt ist.

11. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß mehrere, jeweils einen Kanal (3) und zwei Durchtrittsöffnungen (41, 42) aufweisende Substratplättchen linear und/oder in mehreren Ebenen als jeweils separate Bauelemente miteinander fluidisch verschaltet sind, wobei an vorgebbaren Verbindungsstellen weitere Baugruppen (8), wie bspw. optische Detektoren, Analyseeinheiten, Kalorimeter, elektrochemische Detektoren etc., vorgesehen sind.

12. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß mehrere, jeweils einen Kanal (3) und zwei Durchtrittsöffnungen (41, 42) aufweisende Substratplättchen linear und/oder in mehreren Ebenen als jeweils separate Bauelemente miteinander fluidisch verschaltet sind, wobei an vorgebbaren Verbindungsstellen weitere mikrostrukturierte Baugruppen (8), wie bspw. optische Detektoren, Analyseeinheiten, Kalorimeter, elektrochemische Detektoren etc., in die Gesamtanordnung integriert eingebracht sind.

13. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchtrittsöffnungen (41, 42) parallel zur Flächennormalen (n) in Form von zwei an ihren schmalen Basisflächen aufeinanderstehenden pyramidenstumpfförmigen Kanalbereichen gebildet sind, wobei für das zweite Substratplättchen 2 ein beidseits mit einer Ätzmaske versehenes Si(100)-Wafer eingesetzt ist, deren erste Maskenfläche zumindest über den Durchtrittsöffnungen (41, 42) mit Durchlaßbereichen (51) versehen ist und die auf der gegenüberliegenden Waferfläche aufgebrachte zweite Maskenfläche mit Ausnehmungen versehen ist, deren Öffnungen dem kleinsten lichten Öffnungsquerschnitt der Durchtrittsöffnungen (41, 42) entspricht.

14. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1, 2 und 8, dadurch gekennzeichnet, daß für das zweite Substratplättchen ein Si-Wafer mit 100-, oder 110-Orientierung eingesetzt ist, der einerseits mit einer Siebporenmebranmaskenstruktur 5 versehen ist, die im Bereich des weiter verlaufenden Kanals 411, 412 durch ein der Kanalweite entsprechendes Fenster, das bis zum Chiprand reicht, begleitet wird und die gegenüberliegende Seite des Si-Wafers vollständig von einer ätzresistenten Schutzschicht, z.B. Si_3N_4, bedeckt ist.

15. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Membran (5) durch eine nanoporöse Dünnschichtmembran gebildet ist, deren Porengrößen in einem Bereich zwischen 5 ... 500 nm festgelegt sind.

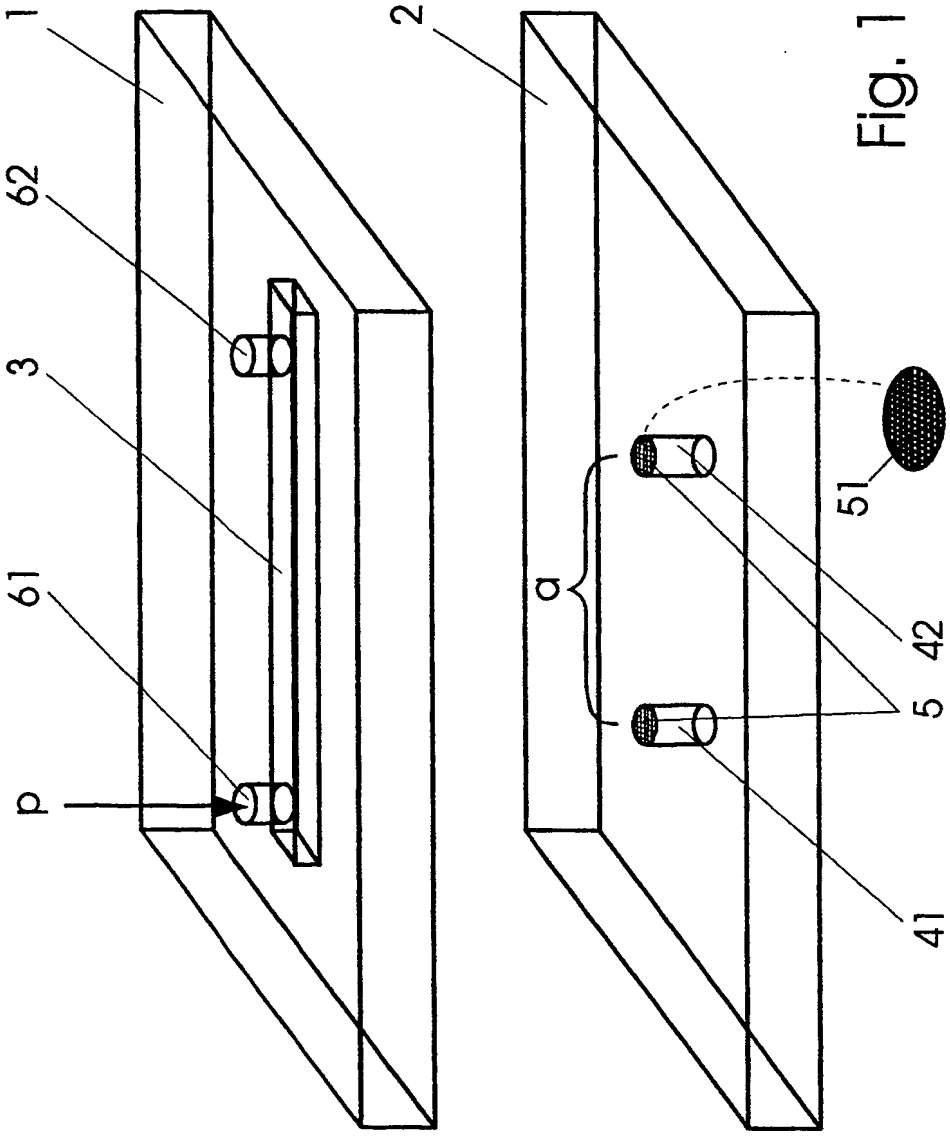


Fig. 1

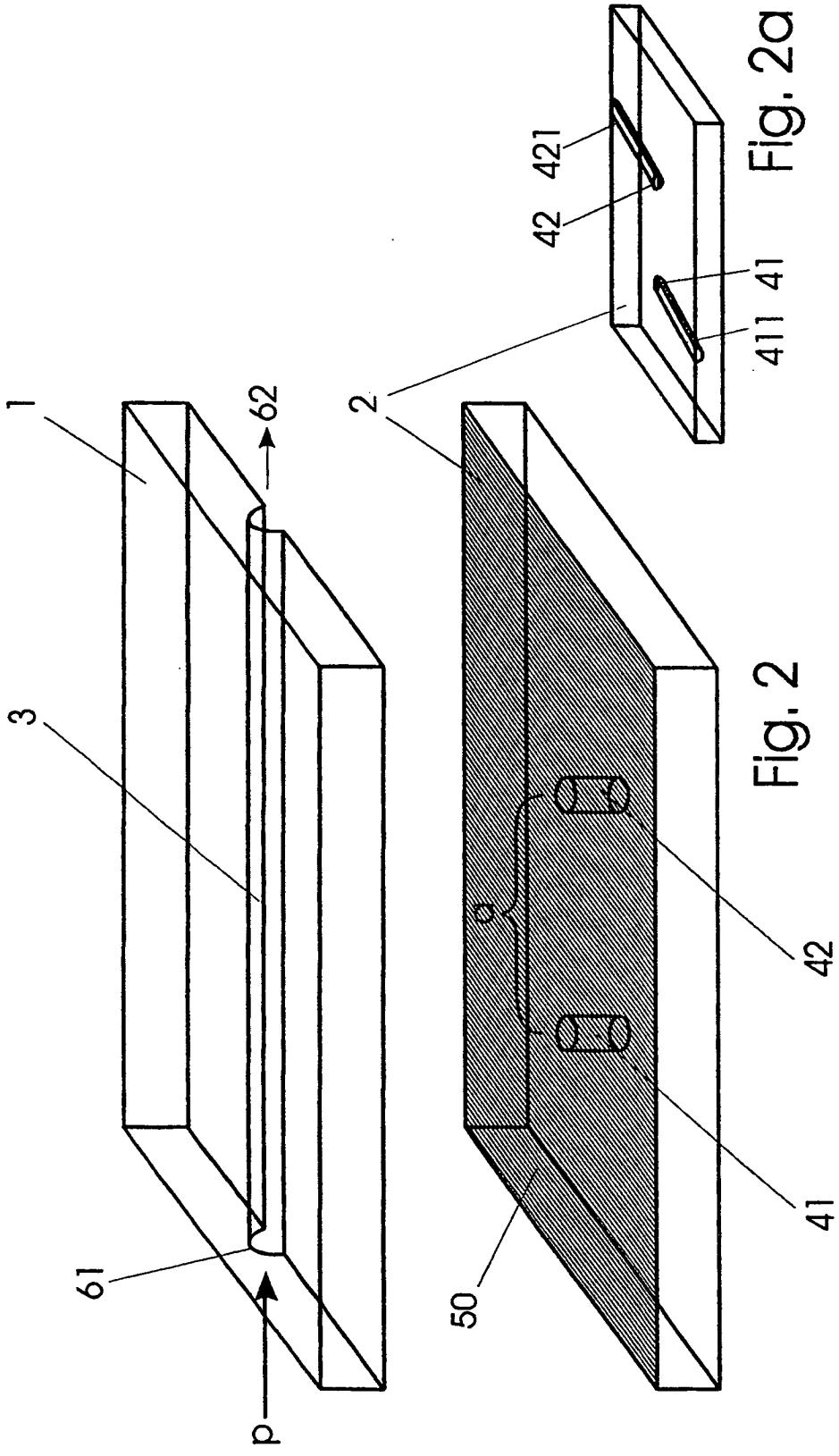


Fig. 2

Fig. 2a

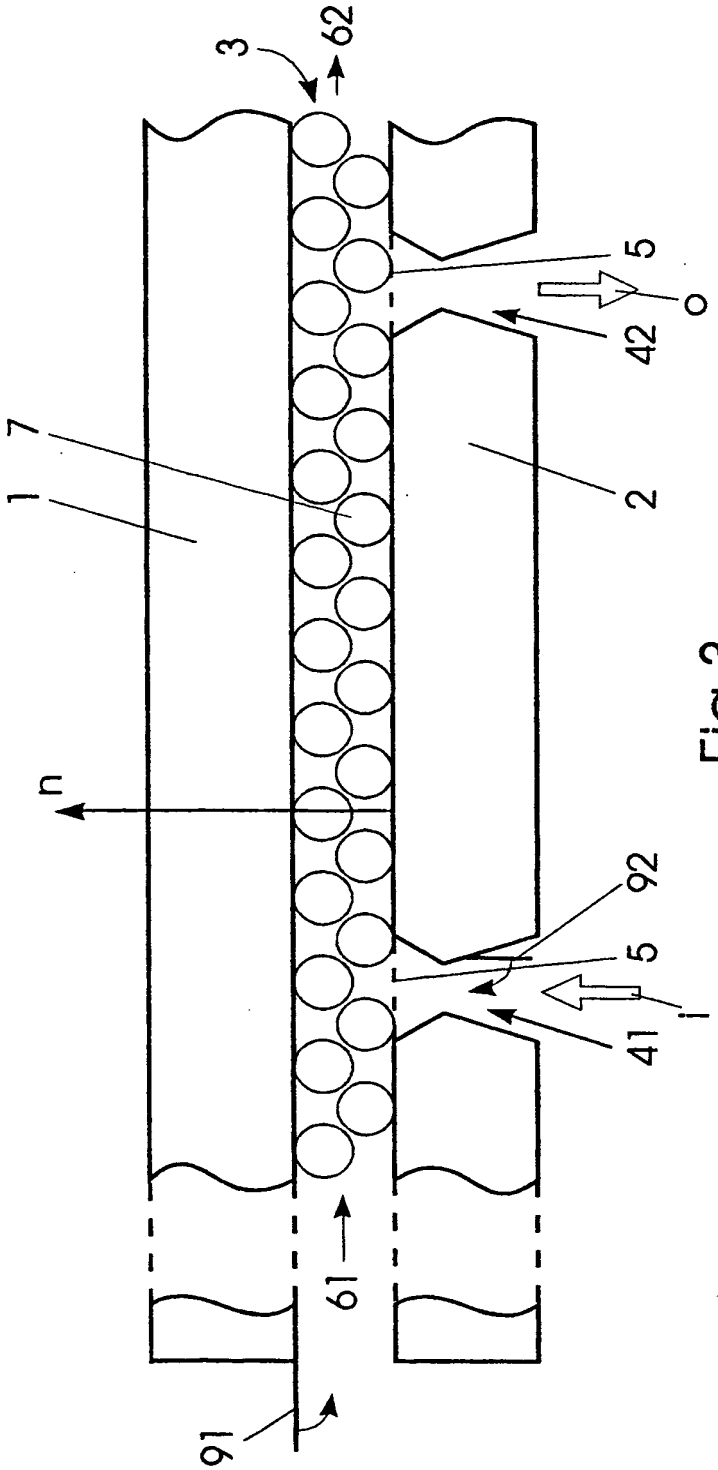


Fig.3

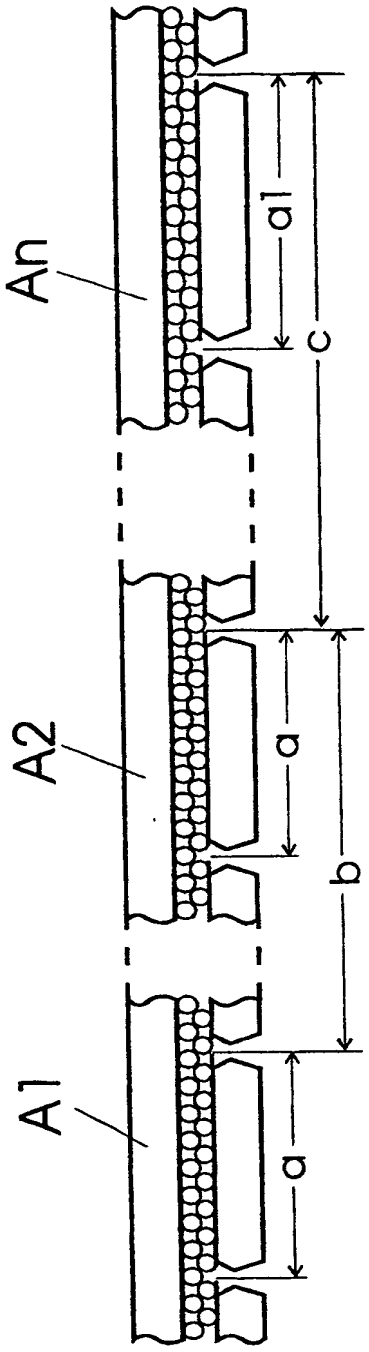


Fig. 4

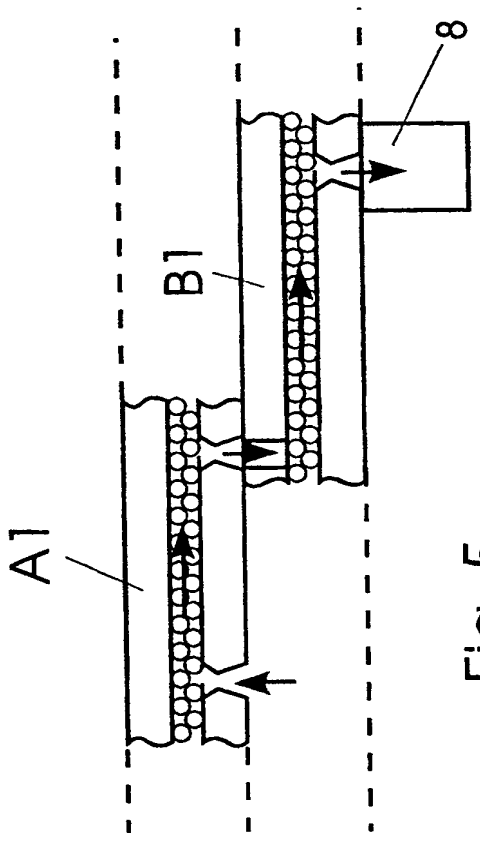


Fig. 5

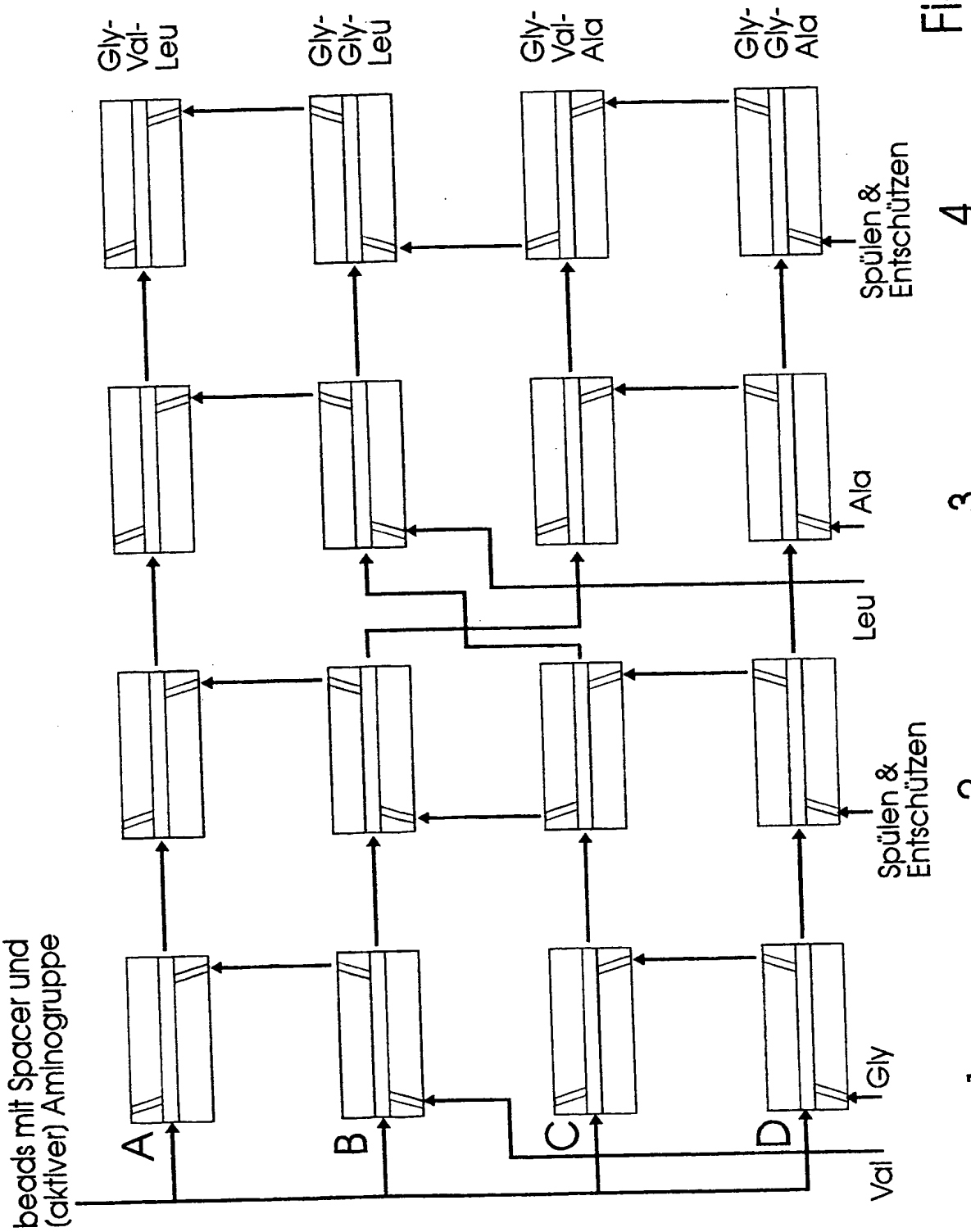

beads mit Spacer und (aktiver) Aminogruppe
A
B
C
D
Val
Gly
Leu
Ala
Spülen & Entschützen
Spülen & Entschützen
Gly-Val-Leu
Gly-Gly-Leu
Gly-Val-Ala
Gly-Gly-Ala
1
2
3
4

Fig. 6

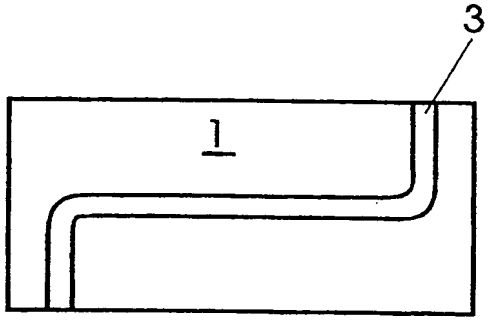


Fig. 7a

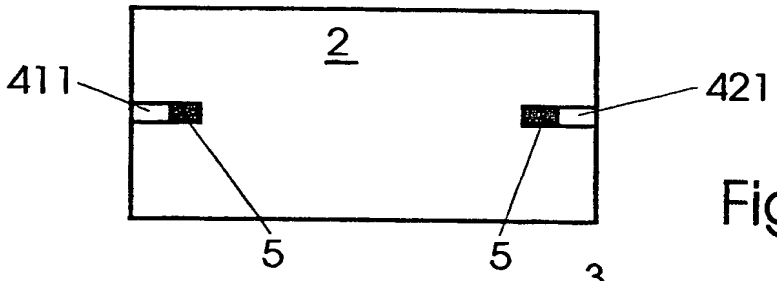


Fig. 7b

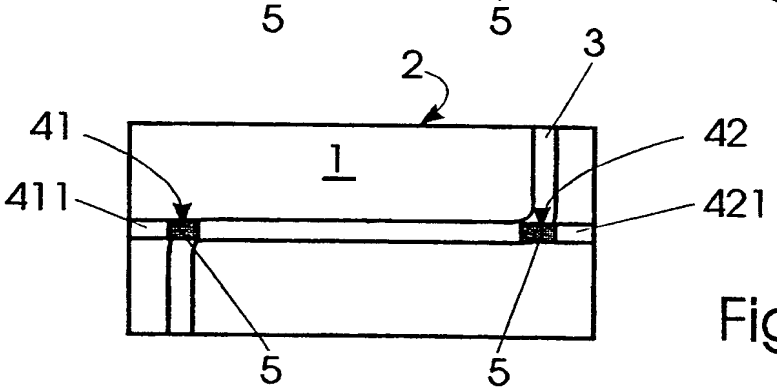


Fig. 7d

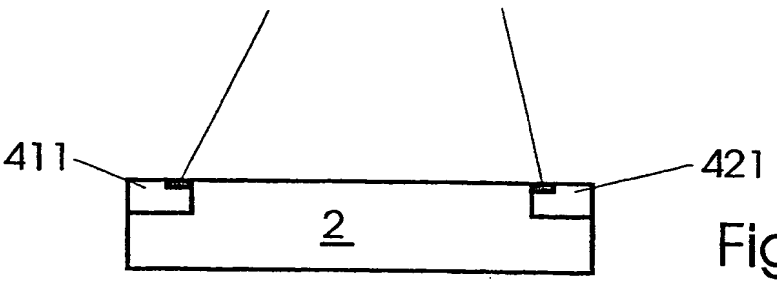


Fig. 7c